Lane Medical Library

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Universität Heidelberg
Direktor: Prof. Dr. B. Mueller

STANFORD UNIVERSITY
15
MAR
1939
LIBRARY

Untersuchungen über die Empfindlichkeit der landläufigen Methoden zum Nachweis von Kohlenoxyd im Blut

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Ruprecht-Karls-Universität
zu Heidelberg

vorgelegt von

Alois Bebiolka
aus Landstuhl/Pfalz

1938
Brausdruck G. m. b. H., Heidelberg

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Heidelberg

Dekan:
Prof. Dr. Runge

Referent:
Prof. Dr. Mueller

1938

Meinen Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

Die Entstehungs- und Wirkungsmöglichkeiten von Kohlenoxyd innerhalb des Rahmens des menschlichen Lebens und Tuns war stets und ist noch so groß, wie bei kaum einem anderen Gifte. Von dem Augenblick an, wo der Mensch in den Besitz des Feuers kam, mußte auch die Geschichte der Kohlenoxydvergiftung beginnen, die deshalb allein von allen andern in nahe Beziehung zu der Zivilisationsgeschichte der Menschheit steht. Denn die Bedingung für die Entstehung dieses Gases: Verbrennung von Kohle bei unzureichendem Luftzutritt und einem Überschuß kohlenstoffhaltigen Materials erfüllen sich leicht. Was immer der Mensch verbrannte, ob Kohle, Holz oder Torf, ob trockenes Gras oder Laub, oder tierische Exkremente, um Wärme für irgendeinen der Zwecke zu erzeugen, die für seine Bedürfnisse unabweislich notwendig waren, oder ob er Brände erzeugte, immer konnte das Eindringen des Dunstes oder Rauches in die Lungen unter ungünstigen Bedingungen das an Krankheitssymptomen veranlassen, was der Ursache nach in früheren Epochen dem Menschengeschlechte zeitweilig in manchen Ländern bekannt war und in anderen zu anderen Zeiten nur von Erfahrenen oder Einsichtigen richtig vermutet oder erkannt, von Unwissenden freilich auch oft verkannt wurde. Denn wie viele von den akuten Todesfällen oder den chronischen Siechtumszuständen, die in alten Zeiten als Teufelswerk gedeutet oder böswilligen Vergiftungen zugeschrieben wurden, möchten nichts anderes als Wirkung des Kohlenoxyds gewesen sein. Dies konnte um so leichter von Unerfahrenen angenommen werden, als der Kohlendunst

auch im Beginn der Vergiftung Erbrechen erzeugt, das, wenn es noch wie gewöhnlich mit Kopfschmerzen vergesellschaftet ist, den Eindruck von Wirkungen eines beigebrachten Giftes machen konnte.

Ursache dieser Vergiftung war meist das Kohlenoxyd. Sie kommen als Einzelvergiftungen oder auch wie im Jahre 200 v. Chr., wie Livius angibt, als Massenvergiftungen vor. Damals töteten Kampaner, die es mit Karthago hielten, viele Römer durch Kohlendunst, indem sie römische Soldaten in öffentliche Bäder einschlossen und durch Kohlendunst erstickten. Es handelte sich hier um eine bewußte Vergiftung durch Kohlenoxyd, da nach alten Mitteilungen die glimmenden Kohlen in die Badestuben gebracht wurden (Lewin). Wo in ganz alter Zeit und viele Jahrhunderte später die Erwärmung der Wohnräume durch offene Kohlenbecken erfolgte, wo dem Rauch der Heizstoffe als Abzugsort keine geschlossene Leitung, sondern nur eine Tür oder eine Zeltöffnung oder ein Mauerloch zur Verfügung steht, wo, wie in China, eine gemauerte Bettstatt von unten durch Heizstoffe erwärmt wird – der Graf York von Wartenburg fand bei der China-Expedition 1900 auf diese Weise seinen Tod (Lewin). – Immer besteht hierbei die Gefahr der Vergiftung. Im Jahre 1727 wurde an Menschen und 1778 im Experiment die Farbenveränderung erkannt, die dieses Gasgemisch im Blut erzeugt, und im Jahre 1826 ausgesprochen, daß die erkennbare Blutveränderung die Ursache der Vergiftungssymptome sei. Im Jahre 1857 wurde weiter erwiesen, daß der veränderte Blutfarbstoff aus chemischen Gründen nicht mehr fähig sei, seine lebenswichtige Funktion zu erfüllen.

Außer den oben erwähnten Bildungsstätten des Kohlenoxyds ist es gelungen (Nicloux Compendium rend. de la Soc. de Biol. LIV 1902 p. 1169). Spuren von Kohlen-

oxydgas im Blute des Meeraals nachzuweisen. Es ist weiter gelungen, im normalen Blut von Tieren, die auf offenem Meer, auf dem Lande oder auch in großen Städten gelebt haben, geringe Mengen von Kohlenoxyd festzustellen. So z. B. solches vom Kaninchen 0,025–0,04 Vol. %, Hunden 0,04–0,08 Vol. %. Hunde in Paris, dessen Luft Kohlenoxyd im Verhältnis von 2 : 100 000 besitzt, sollen davon 0,15 Vol. % in ihrem Blute bergen. Selbst im Nabelblut des neugeborenen Menschen soll sich das Gas in Mengen von 0,05–0,14 Vol. % finden. In einem Referat der deutschen Zeitschrift für gerichtliche Medizin (Bd. 27, 1937 S. 54) wird beschrieben, daß Loeper, Vioy, Tonnet und Varay den Kohlenoxydgehalt im Blute einiger Kranker bestimmt haben und es fand sich bei Asthma 0,5, bei chronischer Bronchitis mit Asthma 13, bei alkoholischer Lebercirrhose mit Ascites 10, bei Diabetes 13 und 9,3, bei Rheumatismus mit Pericarditis 14,8 Vol. Kohlenoxyd auf 1000 Blut, dagegen fand sich das Blut normaler praktisch frei von Kohlenoxyd (nach der Methode von Nicloux).

Eine Methode zur mengenmäßigen Bestimmung von Kohlenoxyd im Blut nach Nicloux beschreibt H. Buresch und teilt mit, daß Nicloux mit dieser Methode Werte bis herab zum normalen, also physiologischen Kohlenoxydgehalt des Blutes ermittelt haben will, den er um 0,1 % schwankend angibt. Es sei kurz sein Verfahren dargelegt. Durch Kochen mit 24%iger Phosphorsäure wird das Hämoglobin zerstört, und die Blutgase werden frei. Das gewonnene Gas sei zusammengesetzt aus Stickstoff, Sauerstoff, Kohlensäure und Kohlenoxyd. Die Kohlensäure wird durch Ausschütteln mit Kalilauge aus dem Gemisch entfernt; danach bleibt noch Stickstoff, Sauerstoff und Kohlenoxyd. Man soll nun Sauerstoff im Überschuß hinzusetzen, wobei ein Verhältnis von dem ver-

bliebenen Gas zu Sauerstoff wie 1 : 1 als ausreichend anzusehen sei. Das Gemisch wird jetzt gemessen; nach der Ablesung wird durch zur Weißglut erhitzten Platindraht eine Verbrennung des Gassauerstoffgemisches bewirkt, wobei CO zu CO_2 verbrennt. Anschließend schüttelt man mit Kalilauge aus und liest an einer Skala ab, wobei sich gegenüber der ersten Ablesung eine Volumenverminderung ergibt. Aus dieser Differenz errechnet Nicloux den Gehalt des untersuchten Blutes an Kohlenoxyd, wobei die Volumenänderung:

$$2 \text{ Vol. } CO + 1 \text{ Vol. } O_2 = 2 \text{ Vol. } CO_2$$

berücksichtigt wird.

H. Buresch gibt allerdings hierzu an, daß auf Grund eigener Untersuchungen sich ergab, daß die von Nicloux angegebene Methode der Kohlenoxydbestimmung im Blut für die exakte Bestimmung kleiner, mittlerer und physiologischer Kohlenoxydmengen (unter 10%) nicht anwendbar ist.

Außerdem ist die Methode der Kohlenoxydbestimmung im Blut nach Nicloux derart kompliziert, daß sie in kleineren Laboratorien nicht angewendet werden kann.

In Leichen, die in Kohlengruben durch Kohlenoxyd starben, und die sich durch auffälliges wie lebendiges Aussehen auszeichneten, war das venöse Blut bis zu 83% mit Kohlenoxyd gesättigt. Das Blut eines Ziegelarbeiters, der in seiner Schlafkammer durch Gas getötet worden war, besaß nur mehr 36% Sauerstoffhämoglobin, mithin 64% Kohlenoxydhämoglobin. Allgemein darf gesagt werden, daß entgegen der früheren Anschauungen der Tod bereits eintritt, wenn etwa 50% des Blutfarbstoffes an Kohlenoxydhämoglobin gebunden sind (Hufnagl). Es ist jedoch nicht richtig, auf Grund des Kohlenoxydgehaltes im Blut auf die Schwere der klinischen Erschei-

nungen zu schließen. Es ist auch bekannt, daß die Kohlenoxydhämoglobinverteilung im Körper nach einer Vergiftung verschieden ist; so fand man nach Lewin im Blute des Sichelleiters 70%, im Blute des rechten Herzens 63% und in einer Schenkelschlagader 50,4% Kohlenoxydhämoglobin.

Von großer praktischer Bedeutung ist nun der Nachweis des Kohlenoxydgehaltes im Blut von Leichen oder nur Kohlenoxydvergifteten ohne Todesfolge, wo sich meistens der Kohlenoxydhämoglobingehalt im Blut unterhalb von 40% bewegt. Von ebenso großer praktischer Bedeutung ist es, wenn man Todesfälle vermeiden will, eine exakte Diagnose zu stellen, d. h. möglichst geringe Kohlenoxydmengen noch zu erfassen.

Was die Methodik zur Kohlenoxydfeststellung im Blut betrifft, unterscheiden wir grundsätzlich die qualitative und quantitative Methode. Die qualitativen Methoden sind sehr einfach durchzuführen, so daß sie in jedem Laboratorium vorgenommen werden können. Die quantitativen Methoden sind kompliziert und kommen nur für gut eingerichtete Laboratorien in Frage.

Doepner gibt an, daß Hoppe-Seyler schon 1864 eine qualitativ chemische Methode zum Nachweis von Kohlenoxydblut mit Natronlauge eingeführt hat. Sehr viele Autoren haben sich daraufhin mit der Erkennung der Kohlenoxydvergiftung beschäftigt und eine große Anzahl von Proben hierfür angegeben, die fast alle auf demselben Prinzip wie die Hoppe-Seyler'sche Probe beruhen, daß eine Blutlösung bei Hervorrufung eines Niederschlages durch chemische oder physikalische Mittel die rote Blutfarbe in ein schmutziges Braun oder Grau verwandelt, daß dagegen Kohlenoxydblut die Farbe mehr oder weniger erhält.

Die bekanntesten im Gebrauch befindlichen Metho-

den seien hier kurz erwähnt, sollen später ausführlich beschrieben und untersucht werden (Lochte).

1. Die Probe nach Zaleski mit Kupfersulfat wird bei einem Kohlenoxydgehalt von 25–30% positiv.
2. Die Lochte'sche Probe mit Schwefelammonium und Wasserstoffsuperoxyd. Die unterste Grenze der Kohlenoxydnachweismöglichkeit soll bei 20%igem Kohlenoxydgehalt liegen.
3. Die Kunkel-Wetzel'sche Probe mit verdünntem Blut und Taninlösung soll bereits einen Kohlenoxydgehalt von 10% erkennen lassen. Doepner will sogar noch einen Kohlenoxydgehalt von 5% nachgewiesen haben.
4. Die Hoppe-Seyler'sche Methode mit Natronlauge. Der Kohlenoxydnachweis im Blute setzt mindestens einen Kohlenoxydhämoglobingehalt von 15–20% voraus.
5. Außer diesen chemischen Proben auf Kohlenoxydhämoglobin ist heute der spektroskopische Nachweis im Gebrauch. Nach Lochte setzt der spektroskopische Nachweis des Kohlenoxydhämoglobins im Blut mindestens einen Kohlenoxydgehalt von 15–20% voraus. O. Schmidt will sogar bei einiger Übung spektroskopisch einen 5%igen Kohlenoxydgehalt nachweisen. Nach Ziemkes Zusammenfassung über Kohlenoxydvergiftungen war in einer Mischung von Sauerstoffhämoglobin und Kohlenoxydhämoglobin eine Konzentration von 10% Kohlenoxydgehalt die geringste, die sich im spektroskopischen Bilde nachweisen ließ.

Es fällt nun auf, daß für einige Methoden eine sehr hohe Empfindlichkeit angegeben wird, so z. B. mit der Kunkel-Wetzel'schen Methode, wobei es Doepner gelingt, 5% Kohlenoxydgehalt im Blut nachzuweisen und

O. Schmidt will mit der spektroskopischen Methode ebenfalls noch 5% Kohlenoxydhämoglobingehalt erkennen können. In der Durchführung dieser Methoden in der forensischen Praxis sind nun Zweifel aufgetaucht, ob diese Methoden wirklich so empfindlich sind. Ich stellte mir die Aufgabe, zu ermitteln, welche von den gebräuchlichsten Methoden zum qualitativen Kohlenoxydnachweis am empfindlichsten und für die Praxis am besten brauchbar seien.

Die erste Aufgabe war nun die Herstellung von Testlösungen, und zwar Lösungen von 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50% ... 0% Kohlenoxydgehalt im Blut. Die früheren Untersucher stellten sich die Vergleichslösungen so her, indem sie eine angeblich gesättigte Kohlenoxydhämoglobinlösung = 100 setzten und diese Lösung mit Normalblut verdünnten. Die Herstellung einer 100%igen Kohlenoxydhämoglobinlösung wurde von verschiedenen Autoren verschieden ausgeführt. So stellte Doepner 100%iges Kohlenoxydblut her, indem er in einem Gefäß Leuchtgas durch Leichen- oder defibriniertes Tierblut, vermittelst einer bis auf den Boden reichenden Röhre 10 Minuten lang unter beständigem vorsichtigem Umschütteln durchströmen ließ. Durch eine seitliche Öffnung am Halse des Gefäßes konnte das überschüssige Gas entweichen; die niedrigeren Prozentsätze wurden durch Hinzufügen entsprechender Menge desselben, jedoch nicht mit Kohlenoxyd in Berührung gebrachten Blutes hergestellt. Doepner hat offenbar angenommen, daß auf diese Weise eine kohlenoxydgesättigte (= 100%ige) Lösung erreicht wurde.

Josef Koller glaubte sich 100%iges Kohlenoxydblut herstellen zu können, indem er durch Normalblut in einer Waschflasche 24 Stunden lang Leuchtgas leitete, wobei er die Flasche von Zeit zu Zeit umschüttelte.

O. Schmidt leitete durch eine 2,5%ige Blutlösung mit destilliertem Wasser verdünnt, gereinigtes Kohlenoxydgas, das aus Oxalsäure und heißer Schwefelsäure gewonnen wurde. Andere Autoren leiteten durch defibriniertes Blut 12 Stunden Leuchtgas.

Keiner der genannten Autoren hat aber festgestellt, ob diese hergestellten Lösungen wirklich gesättigt waren. Eine Nachprüfung hat nicht stattgefunden.

Es ergab sich nun für mich die Aufgabe, eine Kohlenoxydlösung herzustellen, die man auch tatsächlich als gesättigte ansehen muß. Es wurde daher notwendig, auch quantitative Kohlenoxydbestimmungen durchzuführen. Hierzu benutzte ich den im gerichtlich-medizinischen Institut vorhandenen Zeiß'schen Gitterspektographen. Die quantitative Kohlenoxydbestimmungen hiermit beruht auf folgendem Prinzip.

Alle sichtbaren Körper haben Absorption (Abderhalden), sie äußert sich dadurch, daß mehr oder weniger breite Streifen mitten im Spektrum – Banden — oder ein Randbezirk im langwelligen oder kurzwelligen Ende des Spektrums — Endabsorption — ganz oder teilweise ausgelöscht werden. Die Absorptionsbanden der unserm Auge gefärbt erscheinenden Stoffe (Gase, Flüssigkeiten) liegen im sichtbaren Spektrum, diejenigen uns wasserhell erscheinenden Stoffe liegen im Ultraviolett.

Das normale Blut ist nun in seiner Farbe als auch in seinen optischen Eigenschaften vom Kohlenoxydblut verschieden. Das Spektrum ist daher diagnostisch verwertbar. Untersucht man nun verdünntes Kohlenoxydblut im Spektroskop, so sieht man zwei Absorptionsstreifen zwischen den Frauenhofer'schen Linien D und E, ähnlich, doch nicht identisch mit der Lage derjenigen des Sauerstoffhämoglobins. Die Lage dieser Streifen wurde nach Wellenlängen festgelegt, und zwar für

Normale Blutlinien	CO-Blutlinien
$\lambda = 577\ \mu\mu$	$\lambda = 570\ \mu\mu$
$\lambda = 537\ \mu\mu$	$\lambda = 542\ \mu\mu$

λ = Wellenlänge in $\mu\mu$.

Um den Spektrographen zur quantitativen Kohlenoxydbestimmung brauchbar zu machen mußte er zuerst geeicht werden. Dies ist möglich mit den im Spektrum charakteristisch auftretenden Linien von Quecksilberdämpfen oder Helium oder Natriumdämpfen. Ich benutzte Quecksilberdämpfe mit den im Spektrum auftretenden charakteristischen gelben Linien. Lichtquelle war eine Quecksilberquarzlampe. Im Spektrum traten nun Quecksilberlinien auf. Von allen Linien verwendete ich zu meinem Zweck die erste gelbe Linie, indem ich den Schnittpunkt des Fadenkreuzes (das im Blickfeld vorhanden ist) mit der Mitte der ersten gelben Linie zur Deckung brachte. Da der erste gelbe Quecksilberstreifen eine Wellenlänge von $\lambda = 579{,}06\ \mu\mu$ besitzt, so mußte ich an der zur direkten Ablesung von Wellenlängen oder Angstroemeinheiten (1 Angstroemeinheit = $0{,}1\ \mu\mu$) eigens angebrachten Meßtrommel, auf $579{,}06\ \mu\mu$ oder 5790,6 Angstroemeinheiten einstellen, ohne das Fadenkreuz zu verschieben. Eine Eichung an der Meßtrommel unmittelbar nach Wellenlängen bzw. Angstroemeinheiten konnte deshalb vorgenommen werden, da im Gitterspektrum die Wellenlängen einer Spektrallinie dem Sinus ihres Ablenkungswinkels proportional ist. Eine Umdrehung der Schraube an der Meßtrommel = 100 Trommelteile und entspricht $10\ \mu\mu$, so daß wie bereits erwähnt $0{,}1\ \mu\mu$ = 1 Angstroemeinheit bedeutet. Ist nun der Apparat geeicht, so kann die Blutuntersuchung vorgenommen werden. Das zu untersuchende Blut wird stark mit destilliertem Wasser verdünnt (3—4 Tropfen werden in einem mit destilliertem Wasser gefüllten Reagenzglas vorsich-

tig gemischt), wobei der Grad der Verdünnung bedeutungslos ist. Diese Lösung wird in ein sogenanntes Balysches Gefäß gebracht und in den Strahlengang eingeschaltet. Als Lichtquelle benutzte ich eine Glühfadenlampe. Das Balysche Gefäß dient dazu, um die für eine vorliegende Farblösung (Blut) passendste Dicke der Schicht schnell finden zu können. Es ist bei der Betrachtung des Spektrums möglich, die Schichtdicke bequem und stetig zu verändern. Je dicker die Farblösungsschicht, desto dunkler die Absorptionsspektren. Wie bereits erwähnt, entstehen bei Sauerstoffhämoglobin und Kohlenoxydhämoglobin je zwei Absorptionsspektren. Es wird jedoch zur quantitativen Kohlenoxydbestimmung nur der rotwärtsliegende Streifen verwertet. Dieser hat bei einer 100%igen Kohlenoxydlösung sein Absorptionsmaximum (d. h. dunkelste Stelle) bei $\lambda = 570\ \mu\mu$ (= 5700 Angstroemeinheiten), während Sauerstoffhämoglobin sein Absorptionsmaximum bei $\lambda = 577\ \mu\mu$ = 5770 Angstroemeinheiten hat. Mische ich nun Normalblut mit Kohlenoxydblut und betrachte diesen Vorgang im Spektrographen, so kann man beobachten, daß das anfängliche Oxyhämoglobinspektrum sich allmählich nach dem violetten Ende verschiebt und schließlich bei gesättigtem Kohlenoxydhämoglobin seine Endlage einnimmt, die von der Anfangslage deutlich zu unterscheiden ist. Es bewegt sich also das Absorptionsmaximum des rotwärtsliegenden Streifens von Normalblut und 100%igem Kohlenoxydblut zwischen 5770 und 5700 Angstroemeinheiten wie es die graphische Darstellung zeigt (nach einer im gerichtlichmedizin. Institut vorhandenen Tabelle nach Weigert).

Nunmehr stellte ich mir Kohlenoxydblut her, in dem ich durch defibriniertes Schweineblut, unter nebenstehender Versuchsanordnung, Leuchtgas leitete und die

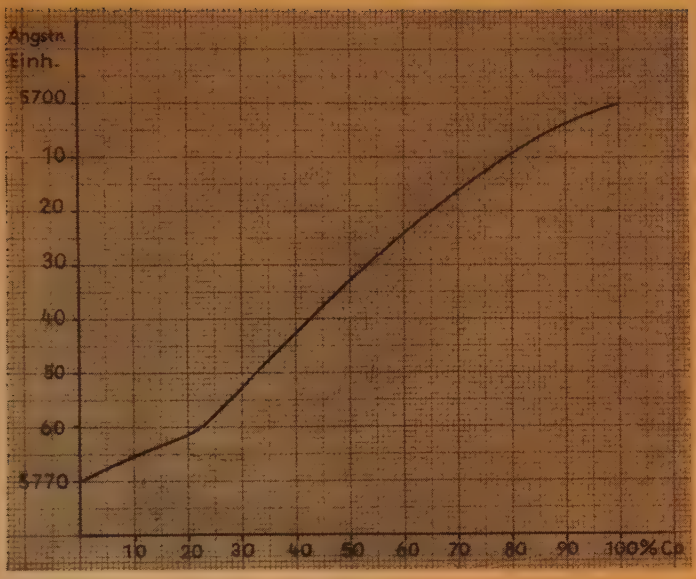

Fig. 1. Auf der Abszisse ist der Kohlenoxydgehalt in Prozent, auf der Ordinate Angstroemeinheiten dargestellt. An Hand der Kurve kann, wenn die Angstroemeinheiten bekannt sind, bequem der Kohlenoxydgehalt in Prozent abgelesen werden.

Kolben A und B von Zeit zu Zeit umschüttelte. Der Kolben B wurde nachgeschaltet, um überschäumendes Blut, das die Flamme C zum Erlöschen hätte bringen können, aufzufangen.

Unter dieser Versuchsanordnung wurde nun 12, 24 und 36 Stunden lang durch defibriniertes Blut Leuchtgas geleitet und bei den so erhaltenen Lösungen wurde der Kohlenoxydgehalt nach der oben beschriebenen quantitativen Methode mittels Spektrographen bestimmt. Es konnte nun festgestellt werden, daß nach Einleiten von Leuchtgas in das defibrinierte Schweineblut nach 12 Stunden eine Kohlenoxydkonzentration von 38—40%, nach 24 Stunden etwa 50—53% und erst nach 36 Stunden eine 100%ige Kohlenoxydlösung zu Stande kam.

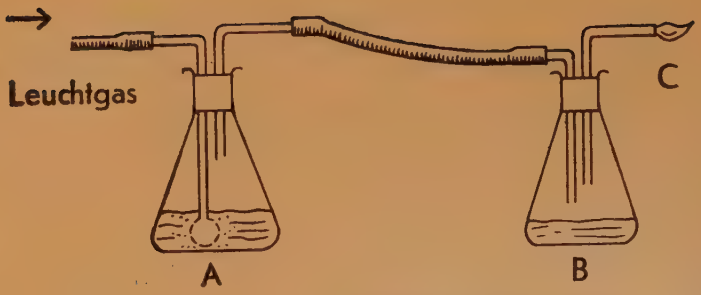

Fig. 2. Herstellung von 100%igem Kohlenoxydblut. Einleiten von Leuchtgas 36 Stunden lang.

Nach diesem erzielten Ergebnis kann man bereits jetzt schließen, daß die Herstellung 100%iger Kohlenoxydlösungen nach Angabe der Autoren zweifelhaft sind, da diese höchstens 24 Stunden Blut mit Leuchtgas beschickten. Eine quantitative Nachprüfung des Kohlenoxydblutgehaltes hat auch nicht stattgefunden.

Nachdem ich eine 100%ige Kohlenoxydblutlösung hergestellt hatte, prüfte ich zunächst die physikalischen Methoden auf ihre Empfindlichkeit, als erste die spektroskopische mit Schwefelammon.

Die bloße Beobachtung der Absorptionsstreifen des Sauerstoff- bzw. Kohlenoxydhämoglobins durch das Handspektroskop läßt einen praktisch hinreichenden in Frage kommenden Lageunterschied nicht erkennen. Dagegen ist der Nachweis einer Mischung von Kohlenoxyd- und Sauerstoffhämoglobin dadurch möglich, daß man im Blute ein Reduktionsmittel (Schwefelammonium) unter Umschütteln zusetzt und 6—8 Minuten wartet. Man wird dabei das zu untersuchende Blut zu einer hellrosaroten Lösung mit destilliertem Wasser unter Vermeidung von Schütteln vermischen und einige Tropfen Ammoniumsulfid zugeben und dann spektroskopieren. Hierbei wird das Kohlenoxydblut nicht verändert, während Sauerstoffhämoglobin reduziert wird und ein breites

weniger dunkles Band erscheint. Das Absorptionsmaximum des reduzierten Hämoglobins liegt bei $\lambda = 559 \mu\mu$. Hat man eine Mischung von Kohlenoxyd- und Sauerstoffhämoglobin vor sich, so ist nach Reduktion ein Schatten zwischen beiden Kohlenoxydstreifen erkennbar, der an Intensität parallel läuft, mit der Menge des vorhandenen Sauerstoffhämoglobins. Nach meinen Untersuchungen setzte der spektroskopische Nachweis von Kohlenoxydblut mindestens einen Kohlenoxydgehalt von 15—20% voraus, unterhalb von 15% konnten im Schatten des reduzierten Hämoglobins keine Oxydhämoglobinstreifen erkannt werden.

Als zweite physikalische Methode prüfte ich die spektroskopische von O. Schmidt in den letzten Jahren angegebene Reduktionsprobe, die es ermöglichen sollte, einen Gehalt von 5% Kohlenoxyd im Blut nachzuweisen. Genaue Nachprüfung von Koller ergab aber nur einen sicheren Nachweis von 20% Kohlenoxyd im Blut. Koller und Schmidt ließen Natriumstannit, das in alkalischer Lösung als Reduktionsmittel wirkt, auf den Blutstoff einwirken, wobei der des normalen Blutes sofort zu Hämochromogen reduziert wird, das Kohlenoxydblut dagegen nicht. Ein nicht vollständig mit Kohlenoxyd gesättigtes Blut zeigt nach der Behandlung mit Natriumstannit neben dem scharf abgegrenzten Hämochromogenstreifen im Grün, den noch im Gelb liegenden ersten Streifen des Kohlenoxydblutes. Dieser erscheint im Spektralbilde (Handspektroskop) als „Vorschlagschatten", der für unser Auge eindrucksvoller ist, als die Feststellung eines zweistreifigen Spektrums neben dem reduzierten Hämoglobin. Wie oben erwähnt, will Schmidt in neuen Versuchen mit dem Zeiß'schen Gitterspektrographen noch 5% Kohlenoxyd im Blut nachgewiesen haben. „Bei 25% Kohlenoxydgehalt ist der

Vorschlagschatten sehr deutlich zu erkennen. Er nimmt entsprechend dem fehlenden Kohlenoxydgehalt der Mischung an Intensität ab. Bei 10% Kohlenoxydgehalt verschattet er noch deutlich im Bezirk der Wellenlängen von $\lambda = 573—568 \mu\mu$. Aber noch bei 5% Kohlenoxydgehalt gibt die photographische Platte vor dem Hämochromogen eine matte Aufhellung wieder (O. Schmidt). Diese Ergebnisse lassen sich jedoch nicht ohne weiteres mit dem spektroskopischen Bilde eines geradsichtigen Handspektroskops gleichsetzen.

Ich stellte nun Versuche mit dem Handspektroskop an.

Aus defibriniertem Schweineblut wurde mit destilliertem Wasser eine 2,5%ige Blutlösung hergestellt. Ich ging dabei von Kohlenoxydblut verschiedenen Gehaltes aus, und zwar benutzte ich 100%ige, 50%ige, 20%ige, 10%ige, 5%ige Kohlenoxydblutlösung und Normalblut. Zu etwa 3 ccm dieser verdünnten Blutlösungen gab ich 5 Tropfen Natriumstannit. — Natriumstannitlösung stellte ich jeweils frisch her, indem ich einige Kriställchen (0,3 g) Zinkchlorür mit wenig Wasser (1 ccm) auflöste und dazu 10%ige Natriumlauge (8 ccm) versetzte, bis der anfangs entstandene Niederschlag sich vollständig aufgelöst hat. — Nach 5 Minuten Reduktionsdauer erfolgte die Betrachtung durch das Handvergleichsspektroskop, wobei immer Normalblut und Kohlenoxydblut verschiedenen CO-Gehaltes gleichzeitig betrachtet wurden. Bei 100%igem Kohlenoxydblut blieben die Kohlenoxydhämoglobinstreifen wie ursprünglich bestehen. Bei Normalblut entsteht der Hämochromogenstreifen und das Sauerstoffhämoglobinspektrum verschwindet. Bei 50%igem Kohlenoxydblutgehalt blieben die Kohlenoxydlinien deutlich erkennbar, die rotwärtsliegende Linie als Vorschlagschatten, der Zwischenraum zwischen den beiden Linien wird dunkler. Bei 20% Koh-

lenoxydgehalt verschwinden die Kohlenoxydhämoglobinstreifen allmählich, jedoch bleibt der rotwärtsliegende Streifen als Vorschlagschatten noch bestehen. Bei 10% Kohlenoxydgehalt trat das Hämochromogenspektrum auf wie bei Normalblut, einen Vorschlagschatten konnte ich jedoch nicht mehr beobachten. Dasselbe geschah auch bei 5%igem Kohlenoxydblut. Nach meinen Untersuchungen ergab sich also, daß unterhalb von 20% Kohlenoxydgehalt im Blut ein sicherer Nachweis desselben mit Natriumstannit im Vergleichshandspektroskop nicht mehr gelingt.

Als nächste Aufgabe stellte ich mir die Prüfung der chemischen Methoden auf ihre Empfindlichkeit.

Zunächst die Probe nach Zaleski mit Kupfersulfat. Ich stellte mir Kohlenoxydblutlösungen her von 100%, 90%, 80%, 70% ... 10% und Normalblut. Diese einzelnen Blutlösungen mit absteigendem CO-Gehalt erhielt ich, indem ich 100%iges Kohlenoxydblut mit Normalblut verdünnte; so stellte ich mir 90%iges Kohlenoxydblut her, indem ich 0,9 ccm des 100% gesättigten Kohlenoxydblutes mit 0,1 ccm Normalblut mischte, 80%iges Kohlenoxydblut indem ich 0,8 ccm des 100%igen Kohlenoxydblutes mit 0,2 ccm Normalblut mischte usw. Jede Probe der absteigenden Kohlenoxydblutreihe wurde nun 100fach mit destilliertem Wasser verdünnt. Zu je 5 ccm des verdünnten Blutes fügte ich nun 5 Tropfen konzentrierte Kupfersulfatlösung zu und kehrte das Reagenzglas langsam um. Reines Kohlenoxydblut wird purpurrot und Normalblut wird grünlich; dazwischen entsprechende Übergänge.

Unterhalb von 30% Kohlenoxydgehalt ist es mir nicht mehr gelungen, einen Farbunterschied zwischen den Proben tiefer liegenden Kohlenoxydgehaltes und

dem Normalblut festzustellen. Dieses Ergebnis stimmt mit früheren Untersuchungen der Autoren überein.

Nach der Probe von Lochte wird Blut stark mit destilliertem Wasser verdünnt, dazu einige Tropfen Schwefelammon und 3%ige Wasserstoffsuperoxydlösung zugesetzt. Normales Blut nimmt bereits nach 2 Minuten olivengrüne Farbe an, Kohlenoxydblut bleibt kirschrot. Zum genauen Nachweis der Empfindlichkeit dieser Probe stellte ich mir wieder absteigende Kohlenoxydblutlösungen her (100%, 90% ... 0%). Ich konnte feststellen, daß die reine kirschrote Farbe bis 70% Kohlenoxydgehalt zu erkennen war, bis 50% Kohlenoxydgehalt wurde die Lösung braungrünlich und unterhalb von 50—30% grünlich mit brauner Beimischung, bei 20% Kohlenoxydgehalt gelingt es bei Vergleich mit dem Normalblut noch eine Farbdifferenz zu beobachten, und zwar ist Normalblut olivengrün und 20%iges Kohlenoxydblut zeigt eine dem Olivengrün sich nähernde Farbe mit ganz geringem Einschlag ins Rot. Unterhalb von 20% Kohlenoxydgehalt schien mir die Methode unbrauchbar, was auch in der Literatur bestätigt wird.

Weiter untersuchte ich die Leistungsfähigkeit der chemischen Niederschlagsprobe nach Kunkel-Wetzel mit 3%iger Tanninlösung. Ich stellte diese Probe an, indem ich Blut der absteigenden Kohlenoxydkonzentrationen (100%, 90%, 80% ... 0%) mit der 5fachen Menge destillierten Wassers verdünnte (ca. 1/4 Reagenzglas). Dazu gab ich die 3fache Menge einer 3%igen Tanninlösung. Es gelang sehr leicht, noch ein Kohlenoxydgehalt von 30% an der rotgrauen Farbe im Gegensatz zu der mehr grauen Farbe der kohlenoxydfreien Blutprobe zu erkennen. Unterhalb der 30%igen Kohlenoxydprobe bis ca. 15% war nur eine Verschiedenheit der Helligkeit mit geringer Beimischung ins Rot fest-

zustellen. Oberhalb von 70% Kohlenoxydblut war stets eine ausgesprochen rote Farbe zu erkennen. Diese Probe wird erst nach ca. 3/4 Stunden deutlich und ist sehr lange demonstrabel.

Es gelang mir, mit Zusatz von einem Tropfen konzentrierter Kalilauge die Niederschläge der Kunkel-Wetzelschen Probe aufzulösen, dabei wurde kohlenoxydhaltiges Blut über 20% rotbraun, Normalblut dunkelgrün. Es gelang so einen Kohlenoxydgehalt von 10% beim Vergleich mit Normalblut noch zu erkennen, und zwar zeigt die 10%ige Kohlenoxydblutlösung einen grünen Grundton mit einer Beimischung ins Rot.

Gebe ich konzentrierte Kalilauge im Überschuß zu den einzelnen Proben, so werden diese alle braun gefärbt (die grüne Farbe verschwindet). Es besteht dann nur noch ein Farbintensitätsunterschied, der mit steigendem Kohlenoxydgehalt abnimmt. Deutliche Farbenunterschiede unter 30% Kohlenoxydgehalt sind hierbei kaum mehr zu erkennen; es ist daher darauf zu achten, daß Kalilauge nicht im Überschuß vorhanden ist.

Als letzte chemische Methode untersuchte ich die Probe nach Hoppe-Seyler mit Natronlauge auf ihre Empfindlichkeit. Ich stellte zunächst wieder absteigende Kohlenoxydblutkonzentrationen her (100%, 90% .. 0%). Von diesen einzelnen Testlösungen mischte ich in einer Blockschale mit weißer Unterlage je 5 Tropfen Blut mit der doppelten Menge konzentrierter Natronlauge. Nach ca. 5 Minuten konnte das Ergebnis abgelesen werden. Kohlenoxydblut bis zu 60% war schön zinnoberrot gefärbt. Bis 30% Kohlenoxydgehalt rotbraun, unterhalb von 15% konnte bei Vergleich mit Normalblut kein Farbunterschied mehr festgestellt werden. Nach 15–20 Minuten waren alle Proben zu einer festen steifen Masse erstarrt und zeigten einen mit der Zeit immer schlechter werdenden Farbunterschied.

In weiteren Versuchen verwendete ich statt Natronlauge konzentrierte Kalilauge unter folgender Versuchsanordnung.

Ich versetzte 5 Tropfen Kohlenoxydblut der einzelnen Verdünnungsgrade (100%, 90% ... 10%, 5%, 0%) mit 5 Tropfen konzentrierter Kalilauge ebenfalls in einer Blockschale mit weißer Unterlage. Schon nach 3 Minuten waren deutliche Farbunterschiede zwischen den einzelnen Proben zu beobachten. Das Normalblut wurde grünlich braun, während das zunächst über 15% liegende Kohlenoxydblut eine mehr zinnoberrote Farbe beibehielt. Nach einer Viertelstunde ist auch bei Kohlenoxydblut bis zu 5% bei Vergleich mit Normalblut ein Farbunterschied zu erkennen; es besteht eine geringe Beimischung von rot wie eine geringe Verschiedenheit der Helligkeit. Das Normalblut wurde schwarzbraun. Farbunterschiede wurden noch etwas deutlicher im durchfallenden Licht. (Beleuchtung von unten mit einer Taschenlampe.)

Werden nach 10 Minuten zu jeder Probe erneut 5 Tropfen konzentrierte Kalilauge zugesetzt, so konnte in bezug auf Farbenunterschiede nichts beobachtet werden. Bei noch stärkerer Kalilaugezugabe trat eine allgemeine Braunfärbung aller Proben ein. Die Farbunterschiede waren am deutlichsten zu erkennen, wenn man nach 10—12 Minuten ablas, weil später alle Proben eine mehr gleichmäßig dunklere Farbe annahmen. Diese Untersuchungen wurden 15mal durchgeführt und ergaben jedesmal das gleiche Ergebnis.

Diese Probe mit konzentrierter Kalilauge stellt meiner Ansicht nach die Methode der Wahl dar. Sie ist sehr einfach durchzuführen und zeigt noch bei 5% Kohlenoxydgehalt die größte Empfindlichkeit aller von mir durchuntersuchten Proben.

Bei der Durchführung der Hoppe-Seylerschen Methode mit konzentrierter Kalilauge in obiger Versuchsanordnung wurde außer der Farbänderung noch folgende Beobachtung gemacht. Nach 1—1½ Stunden war bei den einzelnen Proben festzustellen, daß bei Normalblut eine ganz zähe dickflüssige kaum bewegliche Masse entstanden ist, während die Zähigkeit der Proben mit steigendem Kohlenoxydgehalt abnimmt. Ich habe daher um die Viskosität der einzelnen Proben zu prüfen gleichbreite Filtrierpapierstreifen in die Blutlösungen gleichweit eingetaucht, dabei war zu beobachten, daß die Höhe der aufgesaugten Flüssigkeit bei Normalblut am geringsten war und proportional der Kohlenoxydsättigung sich erhöhte.

Ebenso benutzte ich zum Nachweis der Viskositätsdifferenzen gleichkalibrierte Kapillaren, die ich unter demselben Winkel in die einzelnen Flüssigkeiten eintauchte, und zwar in Konzentrationen von 100%, 50%, 25%, 10% Kohlenoxydblut und Normalblut wie es das Lichtbild zeigt (Fig. 3).

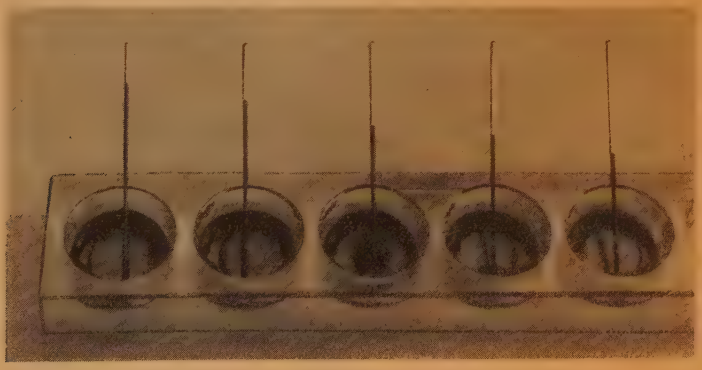

Fig. 3. Viskositätsunterschiede bei Blut verschiedenen CO-Gehaltes mit Kalilauge gemischt. Verschiedene Steighöhe des Blutes in gleichkalibrierten Kapillaren.

Das normale defibrinierte Schweineblut zeigt also die größte Viskosität und nimmt mit steigendem Kohlenoxydgehalt ab. Es wäre denkbar, mit Hilfe dieser Methode quantitativ den Kohlenoxydgehalt des defibrinierten Blutes zu bestimmen.

Verwende ich statt der konzentrierten Kalilauge konzentrierte Natronlauge, so ist mit den Viskositätsunterschieden der einzelnen Proben nichts anzufangen, weil diese wie schon erwähnt nach etwa 10 Minuten alle erstarrt sind und vorher kein Unterschied festzustellen war.

Nachdem man in praxi meist kein defibriniertes Blut, sondern geronnenes Blut zur Verfügung hat, stellte ich an kohlenoxydhaltigem und normalem Mäuseblut Versuche an. Kohlenoxydblut erhielt ich, indem ich eine Maus in eine Leuchtgasatmosphäre brachte. Nach dem Tode der Maus ließ ich dieselbe etwa 10 Minuten in der Leuchtgasatmosphäre liegen. Das so gewonnene Kolenoxydblut hatte, spektrographisch bestimmt, einen Kohlenoxydgehalt von 48%. Normales Mäuseblut erhielt ich von einer nicht vergifteten Maus. Von beiden Blutproben (geronnenes Blut) versetzte ich zu je einem Teil Blut dieselbe Menge konzentrierte Kalilauge. Der Farbunterschied war natürlich sehr deutlich zu erkennen, aber in bezug auf einen Viskositätsunterschied konnte nichts Übereinstimmendes gefunden werden. Eine quantitative Kohlenoxydbestimmung auf Grund von Viskositätsunterschieden ist also nur bei defibriniertem Blut möglich, geht also nur mit gerinselfreiem Blut.

Es wäre eine Methode zu finden, die Blutgerinsel auflöst. Mit Kalilauge ist es nicht gelungen, auch ging es nicht mit Tanninlösung. Mit Kalilauge + Tanninlösung (ein Teil Kalilauge + 20 Teile 3%iger Tannin-

lösung) gelang es, Blutgerinsel aufzulösen, allerdings nur unvollkommen. Normalblutgerinsel wurde mit dunkelgrüner Farbe, Kohlenoxydblutgerinsel (30% Kohlenoxydgehalt) wurden mit hellgrüner Farbe gelöst. Zu einem endgültigen Ergebnis konnte man in dieser Beziehung nicht kommen. Es empfiehlt sich darüber noch weiterzuarbeiten.

Zusammenfassung.

1. In Abweichung von Angaben und Schrifttum habe ich gefunden, daß die Hoppe-Seyler'sche Methode zum Kohlenoxydnachweis im Blut am empfindlichsten ist. Sich ergebende Widersprüche sind dadurch zu erklären, daß die früheren Untersucher glaubten, Blut mit Kohlenoxyd sättigen zu können, indem sie 10 Minuten, 12 Stunden, 24 Stunden Leuchtgas durchleiteten. Nach meinen Untersuchungen wurde aber festgestellt, daß Blut erst gesättigt ist, wenn man dieses 36 Stunden lang mit Leuchtgas beschickt.

2. Als für die Praxis besonders geeignet erwies sich die Probe nach Hoppe-Seyler durch Zusatz von Lauge. Es ist jedoch konzentrierte Kalilauge besser geeignet als konzentrierte Natronlauge. Mit Kalilauge konnte noch ein Kohlenoxydgehalt von 5% nachgewiesen werden.

3. Bei der Durchführung der Untersuchungen ergaben sich Veränderungen der Viskosität des mit Kalilauge gemischten Blutes, die umgekehrt proportional dem Sättigungsgrad zu sein scheint. Es ergibt sich hier die Möglichkeit, durch Prüfung der Viskosität (Aufsaugen mit Filtrierpapier oder gleichkalibrierten Kapillaren) den Prozentgehalt des Kohlenoxydsättigungsgrades zu bestimmen, doch wird die Methode unsicher, wenn es

sich um nicht defibriniertes Blut handelt. Versuche, ob es gelingt, die Blutgerinsel aufzulösen, haben nicht zu vollem Erfolge geführt.

An dieser Stelle möchte ich auch meinen besonderen Dank Herrn Professor Dr. B. Mueller aussprechen für die Überlassung des Themas und für die jederzeit liebenswürdige Unterstützung bei der Ausführung der Arbeit. Ebenso möchte ich Herrn Dr. habil. Elbel herzlich danken für seine immer entgegenkommenden Erklärungen und Anregungen.

Schrifttumsverzeichnis.

Abderhalden: Handbuch der biolog. Arbeitsmethoden. Handbuch, Spektroskopische Methoden des Mediziners, Abt. II, Teil 2, 1. Hälfte, S. 1431.

H. Buresch: Über Fehlerquellen der Kohlenoxydbestimmungsmethode nach Nicloux.
Deutsche Zeitschrift für gerichtliche Medizin Bd. 23, 1934, S. 309.

Hufnagl, Hanns: Beobachtungen und Erfahrungen bei Kohlenoxydgasvergiftungen. In.-Diss. Heidelberg 1935.

Koller, Josef: Zur Methodik des spektroskopischen Kohlenoxydnachweises im Blut.
Deutsche Zeitschrift für gerichtliche Medizin Bd. 21, 1933, S. 275.

Lochte: Handbuch der gerichtsärztlichen und polizeiärztlichen Technik S. 189—192. Wiesbaden 1914.

Loeper, Bioy, Tonnet et Varay: L'oxyde de carbone dans le sang de quelques malades.
C.r.Soc.Biol. Paris 118 (1935) S. 1309—10. Ref. Deutsche Zeitschr. f. ger. Med. Bd. 27, 1937, S. 54.

Lewin, Louis: Gifte und Vergiftungen, die Geschichte der Kohlenoxydvergiftungen S. 55—83. Berlin 1929.
— Die Gifte in der Weltgeschichte, S. 184. Berlin 1920.

Doepner: Zeitschrift für Medizinalbeamte 1909, S. 281.
Vergleichende Untersuchungen über die gerichtsärztliche Bedeutung einiger Methoden zum Nachweis von Kohlenoxyd im Blute.

Rieke, Martha: Über den Nachweis von Kohlenoxyd im Blute mit der Infrarotphotographie. In.-Diss. Göttingen 1936.

Schmidt, Otto: Die Einwirkung von Natriumstannit auf den Blutfarbstoff.
Deutsche Zeitschrift für gerichtliche Medizin, Bd. 19, 1932, S. 516.

— Zum Nachweis von Kohlenoxyd im Blut mit Natriumstannit.
Zeitschrift für gerichtliche Medizin, Bd. 22, 1933, S. 379.

Schumm, Otto: Die spektrochemische Analyse natürlicher organischer Farbstoffe. Kohlenoxydhämoglobin, S. 76. Jena 1927.

Weigert, F.: Optische Methoden der Chemie.
Spektralphotometrie, S. 175. Leipzig 1927.

Lebenslauf.

Am 22. Febr. 1910 wurde ich als Sohn des Postsekretärs Wilhelm Bebiolka in Rammelsbach/Pfalz geboren. Nach einem Volksschulbesuch von 5 Jahren trat ich in die Oberrealschule Zweibrücken ein. Nach Abschluß der 5. Klasse trat ich in die Oberrealschule Kaiserslautern über, wo ich im April 1930 die Reifeprüfung ablegte. Im S.S. 1930 begann ich in München mein Medizinstudium. Die ärztliche Vorprüfung legte ich am Schluß des S.S. 1932 in Heidelberg ab. Während der folgenden Semester studierte ich in München und bestand dort am 8. Febr. 1936 die Staatsprüfung. Seit Mai 1936 war ich in den Knappschaftskrankenhäusern Fischbach und Sulzbach (Saar) Medizinalpraktikant. Am 23. Mai 1937 erhielt ich meine Bestallung als Arzt.